UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
Área de Biociências Aplicadas à Clínica Médica

NITREGÊNIO URINÁRIO E TECIDUAL EM RATOS
DESNUTRIDOS COM SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA

ANDREA FERREIRA SCHUWARTZ TANNUS

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE em
Biociências Aplicadas à Clínica Médica

Orientador:
Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini

Ribeirão Preto
2001

ANDREA FERREIRA SCHUWARTZ TANNUS

**NITROGÊNIO URINÁRIO E TECIDUAL EM RATOS
DESNUTRIDOS COM SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA**

Comissão Julgadora

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE em
Biociências Aplicadas à Clínica Médica

Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini
Orientador/Presidente

Prof. Dr. Hélio Vannucchi
1º Examinador

Prof. Dr. Daniel Ferreira da Cunha
2º Examinador

Ribeirão Preto, 17 Outubro de 2001

DEDICATÓRIA

**Aos meus queridos pais Dorinha e Daruich, pelo carinho, ensinamento,
incentivo e por estarem sempre presentes em minhas conquistas.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Ao Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini pela orientação e, acima de tudo, compreensão, nos momentos difíceis. Por saber transferir tão bem sua afeição pela ciência e pesquisa.

Ao Prof. Dr. Hélio Vannucchi pelo apoio durante a realização deste estudo.

Ao Prof. Dr. José Eduardo Dutra de Oliveira, que apontou-me o caminho da pesquisa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão de bolsa de estudo e apoio financeiro a este trabalho.

Ao Laboratório Fresenius Kabi, pela doação do produto Dipeptiven.

Ao amigo e técnico do Laboratório de Espectrometria de Massa, Gilberto João Padovan, pela paciência e colaboração.

Aos amigos e técnicos do Biotério do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP, Adalberto Verceze, Maurício Arantes e Roni Charles Fabbris,

pelo apoio técnico, auxílio na manutenção e cuidado com os animais, e, principalmente, com o bom humor em nosso dia-dia.

Às colegas Cici, Eloisa, Sandra e Aurea pela atenção dispensada.

Aos funcionários e amigos do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP (Célia Ruiz, Márcia Gaioli, Marisinha, Ednéia, Regina, Miriam, Alex e Thiago) sempre dispostos a ajudar.

Aos maravilhosos companheiros, Maria do Rosário Unamuno, Marcia Morandi, Luciana Rodrigues, Luciane Sant'Ana, Anderson Navarro, Guilherme Portari, Mônica Meirelles, Márcia Zanutto, Cláudia Rocco, Paula Chiarello e Alceu Jordão Jr.

Às amigas: Roberta Carvalho e Anayama Gomes, que acompanharam todos os passos desta conquista.

Agradeço em especial, aos meus queridos Haroldo, Victor, Vanessa, Márcio, Vó Tonha, Tia ZéZe, Tia Iria e a todos os familiares pelo carinho e incentivo.

Enfim, agradeço aos que participaram e contribuíram de alguma maneira na realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
3. OBJETIVO	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. Delineamento experimental	27
4.2. Ambiente de gaiola	34
4.3. Dieta	34
4.4. Gavagem	36
4.5. Solução	36
4.6. Metodologia de análise do nitrogênio	36
4.6.1. Piroquimioluminescência	36
4.6.2. Micro-Kjeldahl	39
4.7. Determinação de aminoácidos	41
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
6. RESULTADOS	47
7. DISCUSSÃO	61
8. CONCLUSÃO	71
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73
10. RESUMO	86
11. ABSTRACT	87
ANEXO I	88

1. INTRODUÇÃO

A desnutrição protéico-calórica grave (DPC) é definida pela Organização Mundial de Saúde (WHO/NUT, 1996) como sendo uma condição patológica resultante da oferta deficiente de proteínas e calorias. Ela pode ser primária, em decorrência da ingestão deficiente de nutrientes e secundária, devido à baixa absorção e/ou aumento na perda/excreção e/ou aumento das necessidades (TORUN & CHEW, 1999).

A DPC é uma carência nutricional que constitui grave problema de saúde pública no mundo. Ela tem sido registrada em 30 a 40% dos pacientes hospitalizados em nações desenvolvidas, constituindo, grave problema em países subdesenvolvidos, tanto em comunidade como em pacientes hospitalizados (BRISTRIAN & BLACKBURN, 1976; VANNUCCHI H et al., 1998).

No Brasil a prevalência de desnutrição intra-hospitalar também é alta e oscila entre 40-60% (ADDISON et al., 1986). Seus aspectos mais típicos, o Kwashiorkor e o Marasmo, quando tomados isoladamente, parecem estabelecer características distintas, respondendo de maneira diferente tanto na evolução como na terapêutica.

Além do tratamento dietoterápico convencional enteral e/ou parenteral (MARCHINI et al., 1997) a DPC vem sendo estudada experimentalmente, com ênfase a suplementações de aminoácidos (DEO et al., 1965; SMITH & JOHSON, 1967; SOUBA, 1997). Os aminoácidos ingeridos e o resultado da digestão protéica fornecem ao organismo substrato para a síntese e

reposição de proteínas corpóreas e como precursores de compostos não protéicos metabolicamente ativos.

A velocidade da taxa de reciclagem protéica (“turnover”) depende da função da proteína e do tipo do tecido ou órgão. A taxa média diária do adulto de proteína renovada ou ressintetizada, é da ordem de 3% do total protéico do organismo. Na pele perdem-se e renovam-se 5 g proteína/dia, no sangue 25 g, no trato intestinal cerca de 70 g e no tecido muscular ao redor de 75 g (LAJOLO & TIRAPEGUI, 1998).

Para manutenção protéica do organismo como um todo é necessário que haja equilíbrio entre os processos de síntese e degradação acoplados a ingestão e excreção de produtos nitrogenados. Esse mecanismo regulador é de importância fundamental no processo de manutenção da integridade estrutural e funcional do organismo (NCNURLAN & GARLICK, 1989). Vários fatores têm sido relacionados com os processos de síntese e degradação protéica, como por exemplo: oferta energética da dieta, insulina, hormônio de crescimento, ingestão de aminoácidos ramificados, idade, doenças, etc. (RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES, 1989).

O organismo é capaz de ajustar os níveis de excreção de nitrogênio para se adequar a ingestão protéica e energética (CALLOWAY & SPECTOR, 1955). À medida que a oferta de nitrogênio diminui, na ausência de estresse metabólico, as perdas de nitrogênio urinário também diminuem, havendo decréscimo da massa orgânica até se atingir um novo estado de equilíbrio. A carência da ingestão energética tem sido associada com o

aumento da excreção urinária de nitrogênio e, conseqüentemente, do balanço nitrogenado negativo (WATERLOW, 1968).

CAMPANA et al. (1975) observaram em ratos adultos com deficiência em proteína, os seguintes dados clínicos: perda de peso corporal, diminuição da ingestão de alimentos e declínio da concentração plasmática de proteínas totais e albumina; tais fatos também foram relatados por DEO et al. (1965). É também descrito que na deficiência protéica ocorrem alterações não relacionadas diretamente à massa muscular, como por exemplo, na quantidade de linfócitos intra-epiteliais do intestino delgado.

Tendo em vista a rápida renovação e diferenciação celular, quaisquer modificações de absorção de nutrientes poderão alterar as células epiteliais do intestino delgado e do cólon, as quais necessitam de grande quantidade de energia para manutenção da integridade morfo-funcional (WILLIAMS, 1997).

As proteínas são constituídas de unidades de aminoácido provenientes de fontes exógenas ou sintetizadas pelo organismo (LACEY & WILLMORE, 1990). Quando o aminoácido não pode ser sintetizado pelo organismo, ou é sintetizado em quantidades insuficientes, é denominado essencial, uma vez que deve ser obtido de fontes exógenas. Inicialmente, considerava-se como aminoácidos essenciais para o homem os seguintes aminoácidos: lisina, triptofano, histidina, fenilalanina, leucina, isoleucina, treonina, metionina e valina (ROSE, 1949). Os demais aminoácidos são sintetizados a partir de produtos comuns do metabolismo intermediário, razão pela qual foram classificados como não-essenciais. Em algumas

situações, as necessidades de um aminoácido não-essencial podem ultrapassar a capacidade de síntese do organismo. Em tais circunstâncias, um aminoácido não-essencial para um indivíduo normal, torna-se fisiologicamente indispensável para o organismo enfermo e, nesse contexto, é denominado condicionalmente essencial (CHIPPONI et al., 1982; YOUNG & MARCHINI, 1990).

No trauma sistêmico e/ou local, o intestino, ao contrário do que era anteriormente considerado, e apesar do repouso de suas funções digestivas impostas pela suspensão da dieta oral, apresenta intensa atividade metabólica. Isso leva ao aumento do gasto energético e conseqüentemente, da demanda de substratos para suprir as necessidades nessa circunstância (WINKLER & MANCHESTER, 1996). Sugere-se, inclusive, que as células epiteliais da mucosa do intestino delgado dependem da glutamina, da glicose e de corpos cetônicos para suprir suas necessidades energéticas. Dentre esses a glutamina parece ser a principal fonte energética para o enterócito (BULUS et al., 1989).

Embora a glutamina seja um aminoácido não-essencial, acredita-se que ela desempenhe papel significativo na regulação do balanço protéico, principalmente em condições de estresse. Estudos em animais revelam que existe correlação entre a concentração de glutamina livre e a taxa de síntese protéica no músculo esquelético (SOUBA et al., 1990). Por outro lado, em cães eutróficos não se demonstra qualquer efeito com a suplementação de glutamina na síntese protéica em epitélio intestinal delgado (MARCHINI et al., 1999).

No entanto, considerando os múltiplos efeitos que a glutamina exerce sobre o organismo (tabela 1), existe a possibilidade de que a glutamina tenha efeito anabólico protéico sobre a musculatura estriada e na mucosa intestinal tanto em animais desnutridos ou em pacientes hospitalizados (ADDAE & LOTSPEICH, 1968; FERN et al., 1971; BULUS et al., 1989; DÉCHELOTTE et al., 1991).

Tabela 1. Características funcionais da glutamina.

É considerada aminoácido essencial em situações anormais.

Constituem substrato energético para células com alta taxa de proliferação, incluindo enterócitos, colonócitos e monócitos.

Modula o balanço ácido-base por meio da produção de amônia nos rins.

Importante precursora de ácidos nucléicos, nucleotídeos, açúcares aaminados, proteínas e de uréia no fígado.

Função de síntese de neuromoduladores

Participa da detoxificação nitrogenada.

Participa da regulação da síntese do glicogênio hepático e proteólise.

(BULUS et al., 1989)

2. REVISÃO DA LITERATURA

A glutamina (Gln), $\text{NH}_2\text{-C(O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH-NH}_2\text{-COOH}$, é o aminoácido mais abundante no plasma dos mamíferos e, por ser sintetizada em praticamente todos os tecidos, é rotulada como não-essencial (LACEY & WILMORE, 1990; WATERLOW, 1996). Diferentemente da maioria dos demais aminoácidos, apresenta dois grupos nitrogenados: alfa-amino, $\text{CH(NH}_2\text{)}$, e um grupo amida, $\text{NH}_2\text{-C(O)}$.

Essa característica a faz importante no transporte de nitrogênio entre os diferentes tecidos e de amônia da periferia para os órgãos viscerais (HARTNANN & PLAUTH, 1989; FÜRST, 2000; DARMAUN & HUMBERT, 2000). Além de participar na estrutura de proteínas e peptídeos, é precursora da gliconeogênese, da amoniogênese renal e de neurotransmissores como o ácido α -aminobutírico e o glutamato; fornece ainda nitrogênio para a síntese de purinas, pirimidinas e nucleotídeos (FÜRST & STEHLE, 1995). A síntese ocorre a partir de glutamato, amônia, um cátion bivalente (como Mg^{++}) (MEISTER, 1980), energia sob forma de ATP e a enzima glutamina sintetase.

A desaminação do grupo amida ocorre pela ação da enzima glutaminase e leva à formação de glutamato e amônia (figura 1). O glutamato pode ser utilizado na síntese protéica ou convertido em α -cetoglutarato e alanina (CHRISTENSEN, 1982; HALL et al., 1996). A energia gerada pela oxidação do α -cetoglutarato, no ciclo de Krebs, leva à produção de 30 moles de ATP, o que torna a glutamina um substrato energético tão importante quanto a glicose (MINAMI et al., 1992). O outro subproduto da

glutamina é a alanina, um aminoácido que desempenha importante papel na neoglicogênese (MEISTER, 1956).

No aspecto quantitativo, a glutamina é o aminoácido que ocorre em maior quantidade no sangue e tecidos humanos em concentrações plasmáticas que variam entre de 500 a 900 $\mu\text{mol/L}$ (BULUS et al., 1989). Em contraste com outros aminoácidos, tais como leucina 160 $\mu\text{mol/L}$, metionina 32 $\mu\text{mol/L}$, treonina 146 $\mu\text{mol/L}$ e valina 252 $\mu\text{mol/L}$ (LENTNER, 1984).

A glutamina é sintetizada no músculo que é constituído com aproximadamente 60% do conteúdo total de aminoácidos. A concentração muscular de glutamina é de 20 mmol/L, equivalente a mais de 15 g de nitrogênio no adulto (CALDER, 1995).

O peso molecular da glutamina é 146,15 e contém 19,2 % de nitrogênio, ou seja, a relação glutamina/ teor de nitrogênio é de 1/0,13, assim sendo, 1 g de glutamina fornece 0,13 g de nitrogênio glutamínico (MILLWARD et al., 1989; MARCHINI et al., 1997).

Figura 1. Ação das principais enzimas no metabolismo da glutamina (HALL et al., 1996).

A glutamina utiliza diversos sistemas de transporte na membrana celular. O sistema A é dependente de sódio e necessita de ATP, enquanto o sistema L, é independente desse íon. Esses sistemas estão presentes na membrana celular de todas as células, inclusive na bordadura em escova das células da mucosa intestinal e na membrana baso-lateral dos enterócitos jejunais do rato (ARDAWI, 1968; NCNURLAN & GARLICK, 1989). Além da afinidade dos sistemas de transportes ser grande pela glutamina, eles são estimulados pela ingestão oral desse aminoácido (PENN & LEBENTHAL, 1990).

No músculo, em condições de estresse, ocorre um considerável aumento do fluxo de glutamina do músculo para o fígado (ARDAWI & MAJZOUN, 1991; CHAMBON-SAVANOVITCH et al., 1999; BOZA et al., 2000). O fígado também pode se tornar importante produtor de glutamina, especialmente durante períodos de acidose e jejum (HELTON et al., 1990). A glutamina e a alanina são os principais carreadores de nitrogênio e carbono do músculo esquelético para o leito esplâncnico (FÜRST, 2000).

O intestino delgado e os rins são locais de maior utilização de glutamina em muitas espécies animais em situação normal (HAMMARQVIST et al., 1989). Em pacientes desnutridos, o teor de glutamina na mucosa duodenal encontra-se diminuído; no entanto, em ratos, a infusão intravenosa de glutamina contribui para manter e/ou recuperar o trofismo de mucosa intestinal (PLATELL et al., 1991). A tabela 2 apresenta série de efeitos benéficos relacionados com a ingestão de glutamina.

Tabela 2. Efeitos da glutamina em animais de experimentação.

Bloqueia a lipólise e cetogênese e aumenta a ureagênese.

Diminui a bacteremia.

Estimula o transporte intestinal de água, sódio e cloro.

Favorece o metabolismo protéico durante regeneração hepática.

Mantém a concentração intra muscular de glutamina.

Melhora a retenção nitrogenada e associada a síntese protéica.

Restaura a celularidade da mucosa intestinal durante nutrição parenteral e/ou quimioterapia, radioterapia e sepse.

(MARCHINI et al., 1997).

O intestino delgado é o local de maior metabolismo da glutamina na maioria dos animais estudados, inclusive no homem (HALL et al., 1996). Tendo em vista a importância da glutamina como modo de transporte de nitrogênio entre diferentes tecidos, o intestino delgado é considerado como tendo importante função no processamento do nitrogênio oriundo de outros órgãos (HARTMAN et al., 1991).

A oxidação do carbono da glutamina é uma fonte fundamental de energia para as células epiteliais da mucosa intestinal, tornando-a tão vital quanto a glicose como combustível respiratório nesse tecido (SOUBA et al., 1990). Assim, o intestino delgado é mais do que um sítio de digestão e absorção de nutrientes. Estudos recentes demonstram que, esse segmento do tubo digestivo desempenha funções tanto em circunstâncias normais como no catabolismo intenso, o que em parte, pode estar relacionado à capacidade do enterócito de metabolizar a glutamina (MOORE & JONES,

1986; HANKARD et al., 1995; BOZA et al., 2000).

Sendo a glutamina substrato energético para os enterócitos, sua oxidação contribui de forma substancial para o fornecimento de energia necessária ao desempenho das atividades metabólicas normais desse grupo de células. Além disso, o epitélio intestinal apresenta altas taxas de síntese protéica e de renovação celular, podendo ser esse aminoácido importante também para esses processos (FÜRST et al., 1989; SCHMIDL, 1992).

A resposta imune iniciada por infecções, trauma ou intervenções médicas, resulta em maior mobilização de nitrogênio no corpo humano. Essa resposta imune leva ao balanço nitrogenado negativo e prolongado, o que prejudica a resposta clínica (VERNON & HILL, 1998).

É importante verificar a possibilidade de enriquecer fontes dietéticas e, em especial, com aminoácidos, que devido ao teor de nitrogênio, tornam-se suficientes para repor essas perdas, e promovem o reparo de tecidos e órgãos previamente depletados. Nesse contexto, aminoácidos têm múltiplas funções como papel de substrato na síntese protéica tornando-os, portanto, necessários no suporte e manutenção de várias funções, tanto para indivíduos sadios como para pacientes.

O balanço nitrogenado do organismo depende da interação entre as reservas periféricas e o leito esplâncnico. Em condições de trauma ocorre catabolismo protéico, resultando em exportação de aminoácidos para uso dos tecidos esplâncnicos, na gliconeogênese e na síntese de proteínas de fase aguda (MARLISS et al., 1971) .

As alterações na concentração dos aminoácidos no tecido muscular

esquelético, após diferentes tipos de lesões, são semelhantes, sugerindo um tipo de resposta comum a vários tipos de trauma. Do ponto de vista desses aminoácidos, verifica-se que há aumento da liberação de aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada (ASKANAZI et al., 1980) em contraste com os aminoácidos não-essenciais, principalmente as custas da liberação de glutamina pelo tecido muscular e dos pulmões, para células do sistema imune, fígado e intestino entre outros órgãos. A concentração plasmática de glutamina também diminui após o trauma, indicando maior captação desse aminoácido por outros órgãos (CLAEYSSSENS et al., 2000). A redução do teor ("*pool*") de glutamina no músculo (em torno de 50% do nível normal) aparece como um sinal da resposta ao trauma (HEYS et al., 1999).

A deficiência de glutamina também resulta em imunodepressão, sendo a função linfocitária praticamente dependente da presença deste aminoácido (CALDER, 1995).

Há controvérsias sob o uso de glutamina como grande regulador de síntese protéica em situações de estresse. HAMMARQVIST et al. (1994) em estudo com infusão de vários hormônios, que estão aumentados em condições de trauma (adrenalina, cortisol e glucagon), demonstraram que, a oferta de solução de aminoácidos sem glutamina, é capaz de manter a síntese protéica em relação ao grupo controle. HIRAMATSU et al. (1994) usando o balanço cinético de aminoácidos em jovens eutróficos, mostraram que, a oferta de glutamina não foi capaz de alterar o equilíbrio de diferentes

aminoácidos, ou estimular a síntese protéica, tanto no jejum como no pós-prandial.

Entretanto, na tabela 3 mostra alguns dos benefícios clínicos em seres humanos recebendo suplementação de L-glutamina.

Tabela 3. Efeitos clínicos benéficos observados em seres humanos após o uso de suporte nutricional suplementado com L-glutamina(Gln), alanil-glutamina (Ala-Gln) .

Mantém e/ou restabelece a concentração intracelular de glutamina

Melhora o balanço nitrogenado após cirurgias, transplante de medula óssea e queimadura extensa.

Aumenta a síntese protéica muscular pós-operatória.

Reduz a degradação protéica miofibrilar.

Aumenta a absorção de d-xilose em pacientes graves.

Reduz a infecção e colonização bacteriana após o transplante de medula óssea.

(ZIEGLER et al., 1993).

Por outro lado, a elaboração de soluções contendo glutamina, destinada a terapia nutricional, apresenta pelo menos duas grandes dificuldades: a primeira relaciona a sua baixa solubilidade em solução aquosa ou seja 36 g/L a 18° C (ADIBI, 1989; BOZA et al., 2000). A segunda ocorre quando soluções de glutamina são aquecidas a 100° C ou armazenadas e sensíveis ao meio ácido (MARLISS, 1965). Nessa situação, a glutamina “*in vitro*” degrada em ácido glutâmico, amônia e ácido

piroglutâmico, potencialmente tóxicos (ARCHIBALD, 1945; ADIBI, 1989). No entanto, a solução aquosa de L-Gln esterilizada a frio por filtração em membrana, é mantida sem contaminação ou degradação por pelo menos 8 dias (ZIEGLER et al., 1993).

Considerando que a glutamina corresponde a cerca de 7% do total de aminoácidos plasmáticos e que 30% deste total de glutamina é liberado pelo músculo no estado pós-absortivo ou em situações catabólicas, sugere-se que, a maior parte da glutamina liberada pelo músculo, seja proveniente de síntese endógena (MEISTER, 1956; DARMAUN, 1995).

A suplementação de glutamina enteral ou parenteral resulta em aumento da espessura, conteúdo de DNA e volume protéico da mucosa intestinal, além da redução da translocação bacteriana depois de radiação (SOUBA, 1991). A suplementação de glutamina previne a atrofia pancreática e o desenvolvimento de esteatose hepática durante alimentação enteral elementar (HELTON et al., 1990) e mantém o metabolismo de glutamina muscular sem estímulo ao crescimento de tumores (KLIMBERG et al., 1990). CUNHA (1994), em experimentos com ratos no trauma agudo por queimadura, observou efeito protetor da oferta de glutamina, impedindo ou diminuindo a translocação bacteriana de *Candida albicans*.

No entanto, TAVARES (1995), estudando o efeito da glutamina em ratos submetidos a raios gama, verificou que a oferta de glutamina não protegeu os animais, quanto à deleção cromossômica.

Com base no metabolismo da glutamina, vários estudos clínicos e experimentais buscam identificar o papel da suplementação desse

aminoácido na melhoria ou na manutenção da integridade morfo-funcional de diversos órgãos em resposta a diferentes tipos de trauma (JEPSON et al., 1988; WILMORE et al., 1988; SOUBA et al., 1990; VAN DER HULST et al., 1993).

Considerando os estudos que envolvem o metabolismo da glutamina, o presente trabalho teve como hipótese que, a suplementação via enteral de L-glutamina diminui a excreção de nitrogênio urinário, poupa a degradação de nitrogênio tecidual e mantém em equilíbrio os aminoácidos plasmáticos, em ratos subnutridos.

3. OBJETIVO

Objetivo Geral

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a suplementação por 3 dias de L-glutamina em ratos subnutridos.

Objetivos Específicos

Comparar o efeito da suplementação oral da L-glutamina :

1. No peso corporal da desnutrição protéico-calórica e protéica.
2. Na excreção de nitrogênio urinário e tecidual.
3. Na concentração plasmática de alguns aminoácidos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.Delineamento experimental

Como exposto nos objetivos, o delineamento experimental foi planejado para procurar possíveis efeitos da suplementação por 3 dias de glutamina, em animais desnutridos, recebendo diferentes formas de dieta. Tentou-se, na medida do possível, fazer-se uma analogia com situações clínicas similares encontradas em pacientes desnutridos internados. Em situações clínicas diferentes, o paciente, dependendo da etiologia da desnutrição pode chegar ao hospital com história dietética variando desde a diminuição global de nutrientes (desnutrição protéico-calórica) até a falta predominante de proteína (desnutrição protéica). Em todas estas situações se busca um fator adicional que iria favorecer o reestabelecimento do paciente, diminuindo tanto o tempo de internação como a eficácia geral do tratamento. A hipótese do presente trabalho é de que a glutamina poderia ser um dos fatores que teriam tais qualidades, ou seja, diminuir a excreção de nitrogênio, poupar o nitrogênio tecidual e manter o equilíbrio aminoacídico plasmático.

Para tanto, foi delineado este trabalho experimental, no qual os animais foram previamente submetidos a processos carenciais e a seguir tratados de maneiras diferentes, como exposto a seguir. Desta maneira, foram utilizados ratos da raça Wistar adultos (7-8 meses) e peso variando entre 500-600 g, oriundos do Biotério Central do Campus da USP- Ribeirão Preto e, posteriormente, mantidos no Biotério do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP. O regime de

claro-escuro foi mantido constante, de 12 em 12 horas. A ração basal utilizada foi igual para todos animais, dieta usual do biotério (Nuvital Nutrientes, LTDA-Colombo/PR[®]), sendo separado um lote da mesma ração para todo o experimento. Paralelamente, foram verificados os valores de nitrogênio e calorias totais, sendo estes valores os utilizados no planejamento dietoterápico do presente trabalho.

A partir de um lote inicial de 60 animais, os mesmos foram distribuídos de forma aleatória nos diferentes grupos de estudo, ou seja:

1- Grupo **(N)**, com número final de 6: considerados nutridos. Estes animais foram observados no Biotério de Clínica Médica, por 7 dias, em dieta livre. No final calculou-se a quantidade média de dieta ingerida por dia (20 g/dia, 74 kcal) e a coletado urina num período de 24hs (dia 7). Esta quantidade de alimentos ingerida serviu como balizamento para oferta de alimento aos outros animais. Portanto, os outros grupos somente foram colocados em experimentação após o término da coleta de material deste primeiro grupo. Finalmente, estes foram sacrificados no 8º dia para coleta de material (vísceras e sangue) para determinações bioquímicas. Conseqüentemente, este grupo foi usado como grupo controle nas análises de nitrogênio urinário, tecidual e aminoácidos plasmáticos.

2- Grupo **(DPC)** com número final de 6: os animais foram submetidos à subnutrição durante 21 dias consecutivos, em proteína e energia, recebendo quantidade equivalente a metade da ração ingerida (10 g/dia) pelo Grupo **N**.

Os animais foram sacrificados no 22º dia de experimento, para coleta de material. Este grupo foi planejado para simular aqueles pacientes portadores de desnutrição protéico-calórica. Estes animais foram considerados o controle "negativo" do experimento, pois os mesmos foram sacrificados no final da desnutrição para coleta de vísceras e sangue e através delas realizar as determinações bioquímicas. Assim, os resultados encontrados foram utilizados para comparar, não só com os grupo N, mas também com o efeito dos diferentes tratamentos propostos a seguir.

3- Grupo **(DPCRGIn)** com número final de 6. Da mesma maneira que o animais do grupo DPC, inicialmente, e pelo mesmo período de tempo, estes animais foram submetidos à subnutrição protéico-calórica durante 21 dias. Reafirmamos que estes animais foram escolhidos por meio de sorteio aleatório inicial. Os dados seqüências obtidos, como o peso, foram desta maneira comparados tendo como controle o próprio animal. Esta comparação intra grupo só não pôde ser feita quando se comparou os dados teciduais e plasmáticos. Neste sentido, a comparação foi feita com os dados dos outros grupos.

A partir do 22 dia de experimento, por 3 dias, estes animais foram planejados para receber teor de nitrogênio e calorias totais, por unidade de massa corporal, semelhante ao grupo N. Porém, a oferta nitrogenada foi diferenciada, ou seja, 1/3 da mesma foi feita sob a forma de glutamina. Os animais foram sacrificados no 25º de experimento para coleta de sangue e vísceras. Este grupo foi utilizado para avaliarmos o efeito da realimentação

oral, juntamente com o efeito da suplementação de glutamina, sem, no entanto, alterar a oferta total de nitrogênio e calorias.

4- Grupo **(DPCGIn)** com número final de 5. Até o 21º dia do experimento, todos os procedimentos descritos no grupo anterior foram repetidos neste grupo. Assim, os animais evoluíram de maneira semelhante ao Grupo **DPC** nos primeiros 21 dias de estudo. No entanto, nos dias 22 a 24, continuaram recebendo 50% da dieta, além de uma suplementação de glutamina, equivalente a 25% da oferta de nitrogênio do Grupo **N**, desta maneira a oferta total de nitrogênio durante os 3 dias de suplementação de glutamina foi planejada para ser em torno de 2/3 do Grupo **N**. Os animais foram sacrificados no 25º de experimento para coleta de sangue e vísceras. Este grupo foi utilizado para avaliarmos o efeito da suplementação isolada de glutamina, após a desnutrição protéico-calórica.

5- Grupo **(DPGIn)** com número final de 6. Este grupo de animais foi planejado para servir como controle da desnutrição em si, assim foi planejado que o mesmo receberia durante todo experimento oferta calórica semelhante a do grupo **N**, e metade da oferta protéica. Assim pôde se comparar os resultados da oferta de glutamina em animais com desnutrição protéico e animais com desnutrição protéico-calórica. Conseqüentemente e diferente dos grupos anteriores, os animais do presente grupo foram desnutridos somente quanto à proteína da dieta, durante 21 dias. Para tanto recebeu o equivalente a metade da dieta do Grupo **N** adicionada de

sacarose na quantidade suficiente para atingir a mesma oferta energética dos animais do Grupo **N**. Nos dias 22 a 24 receberam suplementação de glutamina, equivalente a 25% da oferta de nitrogênio, via sonda gástrica. Os animais foram sacrificados no 25º de experimento para coleta de sangue e vísceras. Este grupo foi utilizado para compararmos o efeito do tratamento com glutamina, nas diferentes variáveis utilizadas, em animais previamente submetidos a desnutrições diferentes, proteíco-calórica e protéica.

Para evolução do peso dos animais, foram realizadas pesagem pela manhã entre às 8 e 9 horas, 1 vez na semana, utilizando-se balança eletrônica, Filizola® capacidade máx. 1,5 kg graduada em 1 grama.

As amostras de urina foram coletadas nos dias zero (considerado basal), 7º, 14º, 21º e nos grupos com suplementação de glutamina, no 25º dia, objetivando determinar o nitrogênio urinário. Os animais foram anestesiados com Tribromoetanol 99% (Aldrich Company, USA) na dose 1 ml/kg peso (no último dia de experimento de cada grupo) previamente ao sacrifício.

A laparotomia, para retirada de vísceras, foi iniciada por uma incisão longitudinal mediana até a cavidade abdominal. Todos animais que apresentavam alterações viscerais macroscópicas durante a laparotomia foram excluídos do experimento. A seguir, foi retirado fragmento de aproximadamente 2 cm da musculatura abdominal, localizado ao lado esquerdo da parede paramedial. Para a obtenção de tecido intestinal, foi inicialmente reconhecido o ligamento duodenojejunal, onde o jejuno era medido até um ponto situado a aproximadamente 10 cm distalmente e neste

ponto seccionado, conforme técnica previamente padronizada no mesmo Biotério de Clínica Médica (FILHO,1998).

A seguir foram coletados o rim esquerdo, fígado e coração. Considerando que as funções ventriculares cardíacas são diferentes, e o trabalho exercido pelos ventrículos são diferentes, foi separado o ventrículo esquerdo e direito do coração. A separação entre os mesmos foi feita por meio de secção longitudinalmente na porção mediana tomando a artéria aorta como referência, conforme técnica previamente estabelecida no Biotério de Clínica Médica

A figura 2 mostra o delineamento experimental esquematizado.

Figura 2. Delineamento experimental

N=nutrido, **DPC**= desnutrido protéico-calórico, **DPCRGln** =desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, **DPCGln** = desnutrido protéico-calórico suplementado com glutamina, **DPGln** = desnutrido protéico suplementado com glutamina.

Gln : L-glutamina, 3 ml via sonda gástrica (Dipeptiven, Fresenius Kabi®)

* Coleta urina 24hs

4.2.Ambiente de Gaiola

Durante todo o experimento os animais foram mantidos em salas fechadas com ventilação natural, temperatura controlada de 24 ± 2 °C, acomodados individualmente em gaiolas específicas com bebedouro e comedouro ou em gaiolas metabólicas (somente quando coletadas amostra de urina). Esta gaiola é constituída por corpo cilíndrico de aço inoxidável, onde se anexa:

- a) comedouro com recipiente móvel, instalado do lado de fora da gaiola, para fornecer a dieta;
- b) bebedouro de vidro em forma de “L” instalado do lado de fora da gaiola com cobertura na haste horizontal por onde o animal se servirá;
- c) piso móvel de rede metálica, que permitirá a passagem de urina,
- d) rede metálica de malha fina colocada 6 cm abaixo do piso da gaiola que permitira a passagem de urina;
- e) funil metálico acoplado à gaiola em seu gargalo, colocado algodão de vidro de modo a impedir a contaminação da urina coletada;
- f) proveta graduada de 100 ml adaptada ao gargalo do funil para recolher urina.

4.3.Dieta

Para todo o experimento foi selecionado um lote único da dieta de biotério Nuvilab CR1 (Nuvital Nutrientes, LTDA-Colombo/PR), (tabela 4).

Tabela 4. Composição química da dieta Nuvilab CR1[®].

Vitaminas*	<i>Vit.A</i> 12,000 UI; <i>D3</i> 1,8000 UI; <i>E</i> 30 mg; <i>B1</i> 5 mg; <i>B2</i> 6 mg; <i>B6</i> 7 mg; <i>B12</i> 20 mcg; <i>Niacina</i> 60 mg; <i>ác. pantotênico</i> 20 mg; <i>ác. fólico</i> 1 mg; <i>biotina</i> 0,05 mg; <i>colina</i> 600 mg
Microelementos*	<i>Fe</i> 50 mg; <i>Zn</i> 60 mg; <i>Cu</i> 10 mg; <i>I</i> 2 mg; <i>Mg</i> 60 mg; <i>Se</i> 0,05 mg; <i>Cb</i> 1,5 mg.
Aminoácidos*	<i>DL- metionina</i> 300 mg; <i>lisina</i> 100 mg
Valor Protéico†	19,9 g/%
Valor Calórico††	3,71 kcal/g

* conteúdo por kg de dieta, segundo informação do fabricante:

† medida de nitrogênio realizada no laboratório, pelo método de Kjeldahl (fonte protéica: farelo de soja).

†† medida de calorias realizada no laboratório, por calorimetria direta

4.4. Gavagem

A técnica de gavagem (aplicação de sonda gástrica) foi utilizada para certificar que a quantidade proposta do material a ser oferecido ao animal, (glutamina) seria feita com exatidão. Foi utilizada sonda de polietileno calibre PE 90, entre 8 e 12cm (Becton Dickinson, USA). O procedimento foi realizado pela manhã, com o animal em jejum. Inicialmente mediu-se a cânula externamente para aferir o comprimento da boca até o estômago, logo após, ocorreu a imobilização do rato.

Ao passar a sonda, observou-se se a cânula estava evoluindo pelo esôfago do animal e quando foi encontrada a medida do comprimento da sonda, já anteriormente delimitada, injetou-se 3 ml da solução.

4.5. Solução

Como fonte de glutamina foi utilizado o produto Dipeptiven Fresenius, Kabi[®], cuja composição em 100 ml é de 20g N(2)-L-alanil-L-glutamina divididas em (8,20g L-alanil, 13,46g L-glutamina). A osmolaridade teórica: 921 mOsm/L e o pH 5,4-6,0.

4.6. Metodologia de análise do nitrogênio

4.6.1. Piroquimioluminescência

A técnica para análise do nitrogênio urinário (urina de 24hs) utilizada foi a de piroquimioluminescência, aparelho Antek (720 e 771) Nitrogen Analyzers, Antek instruments, INC. Houston, USA, que envolve a pirólise

oxidativa a uma temperatura de 1050 °C, a qual produz óxido nítrico (GRIMBLE & WEST, 1988).

O óxido nítrico é carregado para a câmara e misturado com ozônio, produzindo dióxido de nitrogênio instável. Esta instabilidade resulta no comprimento de onda específico, que emite uma luz diretamente proporcional a quantidade de nitrogênio da amostra, mensurada por tubo fotomultiplicador. As reações de piroquimioluminescência são as seguintes:

Onde R é cadeia carbônica da amostra

*comprimento de onda emitido da amostra

As amostras de urina foram diluídas 1:200 com 100 mmol/L HCl. A leitura encontrada no aparelho foi comparada à uma curva padrão previamente estabelecida, com seguintes concentrações 0,5; 1,0; 1,5; 2,5; 4,0 e 5,0 mmol/L de nitrogênio (figura 3). Todas as análises foram feitas pela pós-graduanda.

FIGURA 3. Curva de calibração para metodologia de análise de nitrogênio urinário por piroquimioluminescência.

4.6.2. Micro-Kjeldahl

O método de Micro-Kjeldahl foi utilizado para determinar o nitrogênio em amostras teciduais. Tal método consiste em por meio de uma digestão ácida, onde o nitrogênio da amostra é transformado em amônio (NH_4), o qual é posteriormente separado por destilação e finalmente dosado pela titulação. Neste método determina-se o nitrogênio total contido na amostra, incluindo o nitrogênio protéico propriamente dito e outros compostos nitrogenados não protéicos, tais como: aminas, amidas, lecitinas, aminoácidos e outros (AOAC, 1980).

Técnica

1. Pesar ou medir quantidade adequada de amostra, que deve constar aproximadamente: 1 mg de nitrogênio
2. Transferir para um tubo de digestão de 50 ml e adicionar 2 ml de ácido sulfúrico concentrado e 3 gotas de solução 5% de dióxido de selênio.
3. Aquecer brandamente no início e aumentar gradativamente até completar a digestão

Onde R é a cadeia carbônica da amostra

$\oplus$ aquecimento

4. Esfriar á temperatura ambiente

5. Transferir a solução para o destilador, juntamente com a água de lavagem. Adicionar corante fenolftaleína 1% e NaOH 50% em excesso, ou seja :

6. Recolher o destilado em um Erlenmeyer de 50 ml com 5 ml de ácido bórico a 4% e 3 gotas de Mazuazaga (verde bromocresol e vermelho de metila) como indicador de mudança de cor.

7. Titular com ácido sulfúrico 0,1 N até cor caramelo e anotar o volume gasto em ml.

8. Cálculo:

$$g\% \text{ nitrogênio} = \frac{(\text{vol. encontrado da titulação} - \text{vol. branco}) \times F.C}{\text{vol. da amostra utilizada}}$$

F.C: Fator de Cálculo (concentração de nitrogênio do sulfato de amônia em relação a concentração do ácido sulfúrico 0,01N): 0,1574.

Todas as determinações de nitrogênio urinário e tecidual foram feitas pela pós-graduanda.

4.7. Determinação de aminoácido

Realizada pelo método de Cromatografia Líquida de Alta Especificidade (CLAE), teste quantitativo e qualitativo para análise dos aminoácidos plasmáticos.

As análises dos aminoácidos foram efetuadas no HPLC Shimadzu, modelo LC 10AD, constando de 2 bombas que fizeram o gradiente de eluição das fases móveis. A fase A é uma solução de fosfato de sódio 25 mmol/L, pH 6,9 contendo 20 ml MEOH (metanol), 20 ml ACN (acetonitrila), 20 ml THF (tetrahidrofurano), todos com grau para cromatografia. A fase B era metanol a 65%. Uma unidade comandada pelo programa de computador operava a mistura proporcional das 2 fases de acordo com o exposto abaixo: (gradiente linear)

Tempo (min)	%da fase B
0 - 1	20
36	100
41	100
41:05	20
55	20
55:05	FIM

O fluxo utilizado durante a análise foi 0,8 ml/minuto, a temperatura ambiente entre 23-25°C. A coluna utilizada na separação dos aminoácidos Alltech Associates, Inc (USA), denominada Adsorbosphere OPA-HS de 150 mm comprimento por 4,6 mm diâmetro interno e partícula 5µm.

A amostra passa por um processo de derivatização pós-coluna onde o reagente OPA (ortophital aldeído) é carregado por bomba até a coluna sílica,

com 18 carbonos, separados de acordo com o peso molecular e polaridade através do detector de fluorescência Shimadzu modelo RF535 em 335 nm de excitação e 455 nm de emissão .

Após esse processo de detecção é registrado no computador através de pico e, cada pico representa um determinado aminoácido que já fora previamente identificado pelo respectivo tempo de eluição, utilizando-se para isto uma solução padrão de aminoácido de concentração 25 nanomoles/5ml. A concentração de cada aminoácido na coluna é de 17,86 picomoles. O tempo total de cada análise plasmática é de 55 minutos. A determinação da concentração dos aminoácidos é feita em relação a área de cada pico, comparando-os com os padrões; como exemplificado nas figuras 4 e 5.

A solução padrão utilizada foi, Amino acid Standard oferecida pela Pierce Chemical Company, USA, contém somente os aminoácidos mostrados na figura 4. ou seja: Ácido Aspártico, Ácido Glutâmico, Carboximetilcisteína, Serina, Histidina, Glicina, Treonina, Arginina, Alanina, Tirosina, Metionina, Valina, Felilalanina, Isoleucina, Leucina, Lisina. Na análise de aminoácido plasmático da figura 5, podemos observar picos elevados e sem identificação de nomes, pois a coluna utilizada, disponível para realizar o presente trabalho, não separa todos os aminoácidos livres contidos na amostra. Devido a essas limitações de solução padrão e da coluna, não foi possível detectar todos os aminoácidos das amostras plasmáticas, principalmente a glutamina.

Todas as análises de aminoácidos foram acompanhadas pela pós-graduanda.

FIGURA 4. Características do padrão interno utilizado nas análises por cromatografia líquida dos aminoácidos plasmáticos dos grupos em estudo.

Pico	Tempo retenção em minutos	Área	Aminoácido referente
1	10.897	69349	Ácido Aspártico
2	16.037	807900	Ácido Glutâmico
3	19.580	1054294	Carboximetilcisteína
4	26.560	1048851	Serina
5	27.851	491772	Histidina
6	30.369	255230	
7	30.637	365602	
8	31.899	1149209	Glicina
9	33.415	572421	Treonina
10	33.98	1111305	Arginina
11	36.986	3407731	Alanina
12	40.452	2041766	Tirosina
13	48.956	160040	
14	51.250	653423	Metionina
15	52.245	1500197	Valina
16	53.414	1309868	Felilalanina
17	54.623	1673567	
18	57.242	2348741	Isoleucina
19	58.692	121418	Leucina
20	58.789	123578	
21	58.999	142868	Lisina

FIGURA 5. Exemplo de um resultado de análise plasmática, por cromatografia líquida dos grupos em estudo

Pico	Tempo de retenção em minutos	Área	Aminoácido referente
1	10.938	12596	Ácido Aspártico
2	16.147	734781	Ácido Glutâmico
3	19.755	998292	Carboximetilcisteína
4	23.303	615978	Serina
5	26.776	2024266	Histidina
6	28.317	8340568	
7	32.839	970529	
8	33.398	1410912	Glicina
9	33.672	1635917	Treonina
10	34.230	2675428	Arginina
11	37.236	2085777	Alanina
12	38.735	1709134	Tirosina
13	40.666	8594660	
14	46.333	272592	Metionina
15	50.643	679396	Valina
16	51.550	669633	Felilalanina
17	52.527	4333162	
18	53.683	1184682	Isoleucina
19	54.906	522080	Leucina
20	56.102	255296	
21	56.656	2092490	Lisina

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita utilizando o Grupo N, como controle para comparar os resultados de nitrogênio tecidual e aminoácidos plasmáticos dos grupos estudados.

Cada grupo em particular foi considerado independente, e utilizando o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Esta análise buscou detectar a diferença entre cada grupo experimental.

Para se comparar a evolução da desnutrição de um mesmo grupo, foi feito o teste de Friedman como por exemplo, como evoluiu o peso do animal, no Grupo DPCGIn, no basal, 7º, 14º, 21º e 25º dias.

A comparação múltipla entre os grupos num mesmo dia de experimento foi feita utilizando o teste de Dunn.

Os dados foram computados através do programa: Statistica for Windows Release 4.5, StatSoft, Inc.1993.

7. RESULTADOS

Iniciamente é importante ressaltar que apesar dos grupos experimentais terem sido planejados com no mínimo 10 animais, dois fatores foram decisivos para que o número final de animais em cada grupo fosse em torno de 6. O primeiro fator, foi a mortalidade de ratos durante o experimento com desnutrição protéico-calórica e com desnutrição protéica, em torno de 40% (o que chama atenção para gravidade da desnutrição em si). O outro fator de exclusão de animais foi as alterações macroscópicas viscerais encontradas, como por exemplo, massas tumorais. Cerca de 10% dos animais foram excluídos por estas causas. Assim, os grupos iniciaram o experimento com, no mínimo, de 10 ratos para atingir um número de 6 no final do experimento.

A tabela 5 caracteriza os tratamentos dos diferenciados grupos, mostrando a quantidade oferecida de calorias e proteínas (nitrogênio total) diários, por meio da dieta durante o experimento. Observa-se que os grupos N e DPC não receberam glutamina.

A tabela 6 e figura 6 mostram a evolução de peso corporal durante o processo de desnutrição protéico-calórica e protéica dos grupos experimentais. Houve diferença significativa da perda de peso entre os grupos $DPC \neq DPGIn$ e $DPCRGIn \neq DPGIn$ no 14º dia. No 21º de experimento a diferença entre os grupos, $DPC \neq DPCRGIn$, $DPCRGIn \neq DPGIn$. No 25º dia tal diferença foi nos grupos $DPCRGIn \neq DPGIn$. Encontrou-se diferenças significativas da perda de peso entre os dias de experimentos do grupo DPC no dia basal $\neq 14$, $14 \neq 21$ e

7 ≠ 21 dias, no grupos DPCRGln a diferença foi do basal ≠ 21, 21 ≠ 25 dia e 7 ≠ 25 dia. No grupo DPCGln a diferença foi do basal ≠ 21, 21 ≠ 25 dia e 7 ≠ 25 dia. O grupo DPGln teve diferença significativa nos dias basal ≠ 21, 21 ≠ 25 dia e 7 ≠ 25 dia. A tabela 7 mostra a evolução de peso em relação ao basal durante todo o experimento, considerando o peso inicial igual a zero. De uma maneira resumida, observa-se que os animais submetidos à desnutrição protéico-calórica perderam peso progressivamente e que, a manutenção da oferta calórica manteve o peso.

Com relação ao nitrogênio urinário, reafirma-se que os animais foram considerados controles de si mesmo, ou seja, os dados foram comparados de maneira evolutiva, dentro do mesmo grupo de animais. Os resultados do nitrogênio urinário excretado em 24hs encontram-se na tabela 8. Houve diferença significativa da excreção de nitrogênio entre os grupos DPC, DPCGln e DPGln apenas no 7º dia. Os grupos DPC e DPCRGln tiveram todos os valores de nitrogênio urinário estatisticamente iguais durante todos os dias de experimento. O grupo DPCGln a diferença da perda nitrogenada urinária foi apenas do basal para o 7º dia de desnutrição. O grupo DPGln teve a diferença significativa no basal para o 7º dia e do 7º para o 25º dia de experimento. A tabela 9 mostra o nitrogênio urinário 24 hs em relação ao basal, durante todo o experimento, considerando a excreção inicial igual a zero. Em síntese, somente o grupo com desnutrição protéica apresentou, após a primeira semana de desnutrição, uma diminuição significativa do nitrogênio urinário.

Na tabela 10, estão os resultados de nitrogênio tecidual. Encontrou-se

diferença significativa de perda do nitrogênio no músculo abdominal nos grupos N $\neq$ DPCGln e DPCGln $\neq$ DPGln. No jejuno, a diferença foi nos grupos DPCRGlIn $\neq$ DPGln. No rim, a diferença da perda de nitrogênio foi encontrada apenas entre os grupos N $\neq$ DPCRGlIn. A diferença significativa da perda de nitrogênio hepático, foi encontrada nos grupos N $\neq$ DPCGln, DPCRGlIn $\neq$ DPGln, DPCGln $\neq$ DPGln. No ventrículo direito teve diferença significativa nos grupos N $\neq$ DPGln, DPCRGlIn $\neq$ DPGln e DPCGln $\neq$ DPGln. O resultado da perda de nitrogênio do ventrículo esquerdo teve diferença estatística nos grupos N $\neq$ DPCGln e DPCGln $\neq$ DPGln. Em resumo, houve uma diminuição significativa do nitrogênio tecidual nos grupos desnutridos protéicos-calóricos e manutenção no grupo com desnutrição protéica.

A concentração de aminoácidos plasmáticos essenciais no final do processo de desnutrição, em $\mu\text{mol/L}$ encontram-se na tabela 11, foram diferentes significativamente na leucina nos grupos DPCRGlIn $\neq$ DPGln, na metionina nos grupos DPCRGlIn $\neq$ DPCGln, na treonina nos grupos N $\neq$ DPCRGlIn, DPCRGlIn $\neq$ DPCGln, na valina nos grupos N $\neq$ DPC e DPC $\neq$ DPCGln, DPCGln $\neq$ DPGln. A tabela 12, mostra os resultados de aminoácidos plasmáticos não-essenciais, havendo diferença significativa na alanina nos grupos N $\neq$ DPCRGlIn, no ácido aspártico nos grupos DPC $\neq$ DPCGln, DPCGln $\neq$ DPGln, na serina nos grupos N $\neq$ DPCRGlIn, na arginina nos grupos N $\neq$ DPC, DPC $\neq$ DPCGln, DPC $\neq$ DPGln e DPCRGlIn $\neq$ DPCGln, DPCGln $\neq$ DPGln e na tirosina nos grupos N $\neq$ DPCRGlIn e DPCRGlIn $\neq$ DPCGln, DPCGln $\neq$ DPGln. Em resumo houve

aumento da maioria dos aminoácidos plasmáticos, após o período de desnutrição, excluindo leucina, valina, ácido aspártico, tirosina e arginina.

Tabela 5. Ingestão calórica, protéica e de nitrogênio diárias dos grupos experimentais.

	Calorias		Nitrogênio (excluindo a glutamina)		Nitrogênio total (incluindo a glutamina)	
	Kcal/dia	Kcal/kg peso	g/dia	g/kg peso	mg/dia	mg/kg peso
N (6)	74	0,13	630	1,1		
DPC (6)	37	0,10	320	0,9		
DPCRGln (6)	48	0,14	410	1,2	490	1,5
DPCGln (5)	39	0,10	320	0,9	400	1,1
DPGln (6)	74	0,14	320	0,6	400	0,8

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.

TABELA 6. Evolução de peso durante a desnutrição dos grupos experimentais, (g).

	Basal	7º dia	14º dia	21º dia	25º dia
N (6)	575±25 (569)				
DPC (6)	524±20 (A) (526)	470±10 (B) (472)	408±16 (C) (411)	355±21 (D) (358)	
DPCRGln (6)	520±45 (E) (522)	463±42 (F) (461)	406±43 (G) (395)	328±18 (H) (325)	327±24 (I) (322)
DPCGln (5)	571±33 (J) (494)	518±35 (L) (533)	470±38 (M) (477)	416±40 (N) (420)	364±44 (O) (376)
DPGln (6)	552±39 (P) (535)	530±39 (Q) (515)	528±40 (R) (513)	521±40 (S) (506)	507±36 (T) (494)

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.

Média ± desvio padrão, (mediana).

Análise estatística

Diferença entre os grupos nos dias de experimento
(p<0,05) Kruskal-Wallis

Basal = todos os valores estatisticamente iguais

7º = todos os valores estatisticamente iguais

14º = C≠R, G≠R

21º = D≠S, H≠S

25º = I≠T

Diferença entre dias de experimento de cada grupo (p<0,05) Friedman

DPC= A≠C, A≠D, B≠D

DPCRGln= E≠H, E≠I, F≠I

DPCGln= J≠N, J≠O, L≠O

DPGln= P≠S, P≠T, Q≠T

Figura 6: Perda de peso final do processo de desnutrição.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina. Média e desvio padrão. Letras iguais ($p < 0,05$).

TABELA 7. Evolução de peso em relação ao basal, durante desnutrição nos diferentes grupos experimentais (g).

	Basal	7º dia	14º dia	21º dia	25º dia	%
N (6)	0					
DPC (6)	0	-54±10	-116±16	-169±21		32
DPCRGln (6)	0	-57±42	-114±43	-192±18	-193±24	37
DPCGln (5)	0	-53±32	-101±38	-155±40	-207±44	37
DPGln (6)	0	-23±39	-25±40	-35±40	-49±36	8

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.

Média ± desvio padrão.

TABELA 8. Nitrogênio urinário dos grupos experimentais, (mg/24 hs).

	Basal	7º dia	14º dia	21º dia	25º dia
N (6)	416±61 (410)				
DPC (6)	351±87 (A) (340)	233±42 (B) (235)	286±81 (C) (270)	280±57 (D) (300)	
DPCRGln (6)	403±43 (E) (390)	311±158 (F) (270)	300±121 (G) (260)	315±126 (H) (270)	360±123 (I) (385)
DPCGln (5)	524±103 (J) (490)	236±80 (L) (200)	270±103 (M) (210)	332±68 (N) (320)	442±197 (O) (420)
DPGln (6)	535±68 (P) (550)	130±40 (Q) (145)	226±54 (R) (205)	231±37 (S) (230)	398±178 (T) (385)

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.

Média ± desvio padrão, (mediana).

Análise estatística

Diferença entre os grupos nos dias de experimento
(p<0,05) Kruskal-Wallis

Basal = todos os valores estatisticamente iguais

7º = B≠Q, F≠Q

14º = todos os valores estatisticamente iguais

21º = todos os valores estatisticamente iguais

25º = todos os valores estatisticamente iguais

Diferença entre dias de experimento de cada grupo (p<0,05) Friedman

DPC= todos os valores estatisticamente iguais

DPCRGln= todos os valores estatisticamente iguais

DPCGln= J≠L

DPGln= P≠Q. Q≠T

TABELA 9. Resultados das análises de nitrogênio urinário em relação ao basal durante processo de desnutrição dos grupos experimentais (mg/24hs).

	Basal	7º dia	14º dia	21º dia	25º dia	%
N (6)	0					
DPC (6)	0	-118±40	-66±80	-71±50		20
DPCRGln (6)	0	-92±150	-103±120	-88±120	-43±120	10
DPCGln (5)	0	-288±80	-254±100	-192±230	-82±190	15
DPGln (6)	0	-370±40	-235±50	-269±300	-102±170	25

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.
Média ± desvio padrão

TABELA 10. Nitrogênio tecidual dos grupos no final do experimento de cada grupo, (g N/g peso tecido úmido $\times 10^{-3}$).

	N (6)	DPC (6)	DPCRGln (6)	DPCGln (5)	DPGln (6)
Músculo	11 $\pm$ 7 ^a	3 $\pm$ 1	2 $\pm$ 1	1 $\pm$ 0 ^{a b}	5 $\pm$ 0 ^b
Intestino	3 $\pm$ 3	1 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0 ^c	1 $\pm$ 0	3 $\pm$ 0 ^c
Rim	7 $\pm$ 5 ^d	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0 ^d	2 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1
Fígado	7 $\pm$ 4 ^e	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 1 ^f	1 $\pm$ 0 ^{e g}	8 $\pm$ 2 ^{f g}
Ventrículo Direito	3 $\pm$ 0 ^h	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 1 ⁱ	1 $\pm$ 0 ^{h j}	4 $\pm$ 0 ^{i j}
Ventrículo Esquerdo	5 $\pm$ 2 ^l	2 $\pm$ 0	2 $\pm$ 0	1 $\pm$ 0 ^{l m}	4 $\pm$ 1 ^m

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.

Média $\pm$ desvio padrão

Análise estatística

Letras iguais na mesma linha (p<0,05).

TABELA 11. Concentração de aminoácidos plasmáticos essenciais ($\mu\text{mol/L}$) dos grupos experimentais, após sacrifício.

	Leucina	Metionina	Treonina	Valina
N (6)	43,25 $\pm$ 23,1	30,40 $\pm$ 20,2	63,85 $\pm$ 19,4 ^c	88,80 $\pm$ 22,36 ^d
DPC (6)	95,96 $\pm$ 60,9	48,80 $\pm$ 14,4	94,47 $\pm$ 17,0	185,78 $\pm$ 71,15 ^{d e}
DPCRGln (6)	117,82 $\pm$ 76,6 ^a	56,69 $\pm$ 28,5 ^b	96,73 $\pm$ 48,9 ^c	134,10 $\pm$ 23,23
DPCGln (5)	35,56 $\pm$ 15,1	14,47 $\pm$ 3,8 ^b	55,59 $\pm$ 19,7 ^c	79,19 $\pm$ 14,76 ^e
DPGln (6)	29,30 $\pm$ 5,3 ^a	23,24 $\pm$ 3,4	98,43 $\pm$ 28,1	61,29 $\pm$ 21,28 ^e

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= realimentado e suplementado com L-glutamina, DPCGln= suplementado com L-glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com L-glutamina.
Média $\pm$ desvio padrão

Análise estatística

Letras iguais na mesma coluna ($p < 0,05$).

TABELA 12. Concentração de aminoácidos plasmáticos não-essenciais ($\mu\text{mol/L}$) dos grupos experimentais após sacrifício.

	Glicina	Serina	Arginina	Tirosina	Ác. Glutâmico	Alanina	Ácido Aspártico
N (6)	41,02 $\pm$ 29,5	41,11 $\pm$ 16,4 ^a	57,01 $\pm$ 24,0 ^b	35,10 $\pm$ 19,2 ^e	23,27 $\pm$ 2,3	136,81 $\pm$ 89,4 ^g	6,58 $\pm$ 1,6
DPC (6)	60,15 $\pm$ 24,2	55,55 $\pm$ 9,1	99,82 $\pm$ 19,7 ^{b c}	99,65 $\pm$ 27,4	33,43 $\pm$ 7,9	419,57 $\pm$ 61,4	4,50 $\pm$ 0,8 ^h
DPCRGln (6)	75,37 $\pm$ 42,6	73,09 $\pm$ 26,9 ^a	77,07 $\pm$ 20,6 ^{b d}	98,67 $\pm$ 91,5 ^{e f}	67,35 $\pm$ 7,3	668,66 $\pm$ 69,8 ^g	5,83 $\pm$ 2,4
DPCGln (5)	51,78 $\pm$ 18,7	48,50 $\pm$ 5,9	17,22 $\pm$ 7,0 ^d	37,94 $\pm$ 16,0 ^f	40,06 $\pm$ 1,3	141,45 $\pm$ 9,3	8,6 $\pm$ 0,5 ^h
DPGln (6)	72,27 $\pm$ 10,9	58,54 $\pm$ 21,5	29,91 $\pm$ 8,9 ^{c d}	33,57 $\pm$ 3,3 ^f	27,34 $\pm$ 4,2	161,15 $\pm$ 7,8	5,36 $\pm$ 1,2 ^h

Análise estatística

Letras iguais na mesma coluna ($p < 0,05$).

8. DISCUSSÃO

Observações Gerais

Além das características das dietas oferecidas aos diferentes grupos estudados, o grupo de animais submetidos à desnutrição protéica, apresentaram-se mais calmos ao manuseio. De maneira oposta, os animais submetidos à desnutrição protéico-calórica, mostraram-se agressivos. Tanto em um grupo com desnutrição protéico-calórica quanto em desnutrição protéico, ocorreram queda de pêlos, os olhos sem lágrimas e opacos, além de apresentarem freqüentes erupções de pele. Estas alterações também foram observadas por CAMPANA et al. (1975), em experimentos em ratos com desnutrição protéica, totalmente livre de proteína, no período de 28 dias, e são relacionadas à desnutrição em si. Durante o processo de desnutrição, não foram detectados outros sinais clínicos relacionados com a desnutrição, assim como, nos animais em estudo, não foi detectado, através do exame físico, edema ou retenção de líquido ascítico. Também não foi detectado ascite quando se realizou a laparomia.

Ressalta-se que a mortalidade durante todo experimento foi alta, cerca de 40% em todos os grupos de desnutrição estudados, como fora descrito por CHAMBON-SAVANOVITCH et al. (1999), ao utilizar ratos adultos com restrição de 50% da dieta. A alta mortalidade relaciona-se com a gravidade da desnutrição.

Peso dos animais

Os resultados encontrados nos grupos com desnutrição protéico-calórica, sugerem que a diminuição do peso está relacionada com a oferta deficiente de proteína e energia. No grupo com desnutrição protéica, a perda de peso foi menor, sugerindo que a manutenção da oferta calórica é importante para evitar tal declínio. Assim a perda de peso não se relacionou com a menor oferta protéica e sim com a oferta calórica. Estes resultados são semelhantes ao encontrado na literatura (HILL et al, 1984, McCANCE & WIDDOWSON, 1966).

A oferta de glutamina, independente da oferta total de nitrogênio, não influenciou na perda de peso. Desta forma podemos sugerir que a diminuição da fonte energética foi o principal fator para diminuição de peso corporal e que a oferta de glutamina não alterou esta perda. De maneira semelhante, HILL et al. (1984) usando ratos Wistar machos de 100 g com jejum de 3 dias, encontraram perda de peso 19%, e com a realimentação em 10 dias retornou ao peso inicial. McCANCE & WIDDOWSON (1966), realimentando porcos jovens após deficiência calórica e protéica, observaram que após 3 semanas a taxa de metabolismo e crescimento voltam aos níveis normais e com maior rapidez nos porcos jovens com desnutrição calórica.

Nitrogênio Urinário

Os resultados de nitrogênio urinário mostram que, o grupo desnutrido protéico diminui significativamente sua excreção após 7 dias de experimento. Este processo adaptativo não foi encontrado nos animais desnutridos globalmente. Em paralelo, a menor perda de nitrogênio nos grupos desnutridos protéicos-calóricos pode-se sugerir que a adaptação à carência neste grupo de animais foi mais efetiva. Além deste fato, observa-se que a oferta de glutamina não alterou a excreção urinária, para mais ou menos em qualquer dos grupos. No entanto, e considerando que a oferta de glutamina foi de 1/3 do nitrogênio ingerido, e que o mesmo não foi perdido na urina, pode-se especular que esta oferta nitrogenada foi retida pelo organismo e que esta poderia ser uma ação inespecífica da oferta nitrogenada ao animal desnutrido, como observado nos animais desnutridos que receberam além do suplemento de glutamina, uma maior oferta proteica pela dieta (grupo DPCRGIn).

KHAN & BENDER (1974), usando ratos com 70% de restrição da dieta por 4 semanas, verificou que nos primeiros 10 dias houve perda de peso e balanço nitrogenado negativo e após 20 dias a perda de peso cessa e o balanço nitrogenado retorna ao equilíbrio, sugerindo processo adaptativo. Da mesma forma, FELGINES et al. (1999) estudando a influência da idade de ratos na restrição prolongada de dieta, observaram que ocorre mecanismo adaptativo na restrição da dieta, quanto ao equilíbrio de nitrogênio e perdas de peso; resultados similares relatados no trabalho de KIRSCH et al. (1968).

Assim como, FASHAKIN & FÜRST (1987) em experimento com ratos de 200 g com dieta hipoprotéica, durante 10-12 dias, concluíram que a deficiência de 300 mg N/dia associa-se à conservação de nitrogênio corporal, sugerindo um processo de adaptação global dos animais. No entanto, CHAMBON-SAVANOVITCH et al. (1999), em experimento com ratos adultos (12-24 meses) e restrição de 50% de proteína e calorias durante 12 semanas, observaram que o balanço nitrogenado diminuiu drasticamente depois de 3 semanas, tornando-se negativo.

De maneira similar aos trabalhos acima mencionados, no presente estudo, pode-se sugerir que ocorreu um processo adaptativo no mecanismo de perda de nitrogênio. Novamente a oferta de glutamina por 3 dias, não foi capaz de influenciar a perda urinária de nitrogênio.

Nitrogênio Tecidual

A diminuição global de nitrogênio encontrada, nos animais desnutridos, sugerem que com a restrição da fonte protéica e energética, o nitrogênio tecidual é rapidamente consumido para adequar-se às novas condições metabólicas. No entanto, na desnutrição protéica não ocorreu a diminuição de nitrogênio tecidual em nenhum dos tecidos estudados, encontramos diferenças quando comparamos com os grupos de desnutrição protéico-calórica. Estes resultados apontam para ao fato de que a fonte energética seria relacionada com a degradação protéica dos tecidos. Podemos observar nos dados encontrados que a realimentação e/ou a suplementação

de glutamina nos diferentes grupos estudados não alterou as concentrações de nitrogênio tecidual após a desnutrição. Os resultados encontrados por MARCHINI et al. (1990) de nitrogênio nos tecidos de rim e fígado em ratos jovens nutridos, são semelhantes aos dados encontrados no grupo N deste estudo.

Aminoácidos Plasmáticos

Os resultados encontrados da concentração plasmática de aminoácidos essenciais e não-essenciais demonstram que com a redução da oferta protéico-energética e/ou somente protéica foi elevada, independente da realimentação e/ou suplementação de glutamina. Estes achados seriam devido ao aumento das necessidades de oferta de nitrogênio aos diferentes tecidos, mas também poderiam estar refletindo uma maior degradação tecidual periférica e conseqüente aumento de aminoácidos circulantes. O aumento ocorreu tanto na desnutrição protéica, como na protéico-calórica, independente da oferta de glutamina ou da maior oferta de dieta. Assim este aumento plasmático de aminoácidos foi semelhante no grupo com desnutrição protéico-calórica sem qualquer suplementação, como nos outros grupos, sugerindo que o processo mais importante seja a degradação periférica de aminoácidos. Em particular, chama atenção o fato de que alguns aminoácidos diminuíram, com por exemplo a leucina. Este aminoácido em especial, relaciona-se com vários aspectos de estímulo da síntese protéica por meio de um ação semelhante a insulina (YOUNG et al.

1992), pela leucina. No entanto, variações particulares de aminoácidos são campo amplo para investigação futura. Nossos resultados, de maneira geral, também estão de acordo com os encontrados por ANDERSON et al. (1968) e PENG et al. (1972) "quanto menor a oferta de proteína, maior a concentração plasmática de aminoácidos essenciais".

Utilização da L-Glutamina

A suplementação de L-glutamina feita nos ratos com desnutrição protéico-calórica e protéica não alterou os níveis de excreção urinária de nitrogênio e, nem diminuiu a perda de peso e nitrogênio tecidual. Em um dos grupos que recebeu o dipeptídeo, e cuja oferta nitrogenada foi semelhante a do controle (grupo DPCRGln) houve aumento dos níveis plasmáticos de alanina. Todavia, o mesmo aumento não foi observado nos outros dois grupos suplementados com L-alanil-L-glutamina. Nestes grupos os valores de alanina foi semelhante ao grupo controle e ao grupo com desnutrição protéico-calórica e desnutrição protéica. Os níveis de aminoácidos plasmáticos são sujeitos a controvérsia, e objeto constante de estudo.

A L-glutamina utilizada para a suplementação dos grupos em estudos foi associada a um dipeptídeo (L-alanil-L-glutamina), tanto um como outro (L-glutamina, como o L-alanil-L-glutamina, são ativamente absorvidos contra o gradiente de concentração, compartilhando de um mesmo sistema de transporte (ADIBI et al., 1986). Sugere-se, que a absorção de aminoácidos é mais rápida, se forem oferecidos na forma de peptídeos quando comparado

na forma livre (ADIBI, 1989). Os aminoácidos são absorvidos principalmente no intestino delgado proximal, enquanto os dipeptídeos o são tanto na porção proximal, como distal do intestino delgado (LACEY & WILMORE, 1990). Contudo, não há consenso sobre a melhor forma de oferta de glutamina, em relação ao processo digestivo e sua absorção (DARMAUN & HUMBERT 2000; BOZA et al. 2000). ADIBI et al. (1986), ao estudar ratos que receberam infusão de glicilglutamina e alanilglutamina, observaram uma rápida e progressiva diminuição de concentração plasmática em ambos os dipeptídeos o que resultou em pequeno aumento de concentração de glutamina no plasma e na região esplâcnica (LOCHS et al., 1989), sem efeitos indesejáveis (VAZQUEZ et al., 1986).

O resultado do presente estudo sobre o efeito da suplementação de glutamina não apresentou diferença na evolução da perda de peso, na excreção urinária de nitrogênio, no nitrogênio tecidual e concentrações plasmáticas de aminoácidos. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos que não mostram a relação entre oferta de glutamina e diferentes aspectos do metabolismo protéico como o de HIRAMATSU et al. (1994) em jovens eutróficos, MARCHINI et al. (1999) em cães eutróficos e TAVARES (1995) em ratos submetidos a raios gama. XU et al. (1988) ao utilizar técnica de biologia molecular, para quantificar a fosforilação da insulina, em células RINm5F, observa que, o efeito da glutamina é próximo ao da salina, e, significativamente inferior ao da leucina. Portanto, mesmo em animais desnutridos, não se observou efeito benéfico da glutamina em relação aos aspectos do metabolismo nitrogenado estudado. No entanto, não se pode

descartar a possibilidade da glutamina afetar o metabolismo energético total e em particular do enterócito. Segundo MOSONI et al. (1999) em experimento com ratos, privado de alimentação durante 5 dias e em seguida realimentados, existe uma estimulação de síntese protéica durante a realimentação. No presente estudo não foi feita avaliação direta da síntese protéica, porém Marchini et. al, 1999, em cães saudáveis, após receberem glutamina, não observou estímulo da síntese proteica em enterócitos.

Por fim, pode-se sugerir que da mesma maneira que o peso global dos animais tende a diminuir após a desnutrição, a composição protéica (nitrogenada) tecidual segue esta mesma tendência. Por outro lado, não se observou, nas várias vísceras, analisadas aumento em relação ao controle do nitrogênio, apesar da suplementação de glutamina. A única observação positiva foi o aumento de níveis plasmáticos de aminonoácidos, que talvez pudesse ser imputado ao aumento oferta de nitrogênio, durante os 3 dias finais de estudo, na forma de dieta como um todo ou do suplemento de glutamina. Estes processos seriam adaptativos e se relacionariam com a manutenção da vida. De forma semelhante, ratos cronicamente subnutridos (dieta hipocalórica e hiponitrogenada), se adaptam diminuindo globalmente seu metabolismo geral (OSBORNE & MENDEL, 1915). Entretanto não há uma explicação totalmente satisfatória que justifique este processo adaptativo. A modulação genética feita por nutrientes específicos poderia ser um caminho a ser perseguido para uma possível justificativa. (YOUNG & MARCHINI, 1990). O presente trabalho sugere que a glutamina especificamente, pelos aspectos estudados, não influenciaria a recuperação

dos animais desnutridos. Talvez a oferta de glutamina teria função pela oferta inespecífica de nitrogênio, como seria se tivesse sido utilizado outra fonte de nitrogênio protéico.

9. CONCLUSÃO

Conclui-se que diante dos resultados deste estudo, não podemos afirmar a eficácia de L-glutamina em nutrição enteral, para conter e/ou reverter o avanço da desnutrição protéico-calórica e protéica em ratos.

Os principais fatos observados foram:

A perda de peso acentuada em ratos com desnutrição protéico-calórica, não ocorrendo o mesmo em ratos com desnutrição protéica.

Nitrogênio urinário e tecidual sem diferença entre grupos de desnutridos protéico-calóricos e proteícos, recebendo ou não L-glutamina.

Alterações na concentração de aminoácidos plasmáticos, não significativas após a desnutrição com suplementação de L-glutamina.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDAE SK, LOTSPEICH WD. Relation between glutamine utilization and production in metabolic acidosis. **Am. J. Physiol.**, 215(2):269-727, 1968.

ADDISON E, MARCHINI JS, SILVA MR, VANNUCCHI H. Estudo nutricional de pacientes hospitalizados, subsidio a favor da criação de comissões de suporte nutricional. **Rev. Soc. Braz. Nutr. Parent.**, 3(1):9-12,1986.

ADIBI SA, PALEOS GA, MORSE EL. Influence of molecular structure on half-life and hydrolysis of dipeptides in plasma: Importance of glycine as N-terminal amino acid residue. **Metabolism**, 35(9):830-836, 1986.

ADIBI SA. Intravenous use of glutamine in peptide form: clinical applications of old and new observations. **Metabolism**, 38(8 suppl.1):89-92, 1989.

ANDERSON HL, BENEVENGA NJ, HARPER AE. Associations among food and protein intake, serine dehydratase, and plasma amino acids. **Am. J. Physiol.**, 214(5):1008-1013, 1968.

AOAC. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, USA 13^{ed} 1980.

ARCHIBALD RM. Chemical characteristics and physiological roles of glutamine. **Chem. Rev.**, 37(1):161-208, 1945.

ARDAWI MS, MAJZUOUB MF. Glutamine metabolism in skeletal muscle of septic rats. **Metabolism**, 40(2):155-164, 1991.

ARDAWI MS. The transport of glutamine and alanine into rat colonocytes. **Biochem. J.**,238(1):131-135,1986.

ASKANAZI J, CARPENTIER YA, MICHELSEN CB, ELWYN DH, FÜRST P, KANTROWITZ LR, GUMP FE, KINNEY JM. Plasma amino acids following injury. Influence of intercurrent infection. **Ann. Surg.**,192(1):78-85, 1980.

BISTRAN BR, BLACKBURN GL. Prevalence of malnutrition in general medical patients. **JAMA.**, 235(15):1567-1570, 1976.

BOZA JJ, MAIRE JC, BOVETTO L, BALLÈVRE O. Plasma glutamine response to enteral administration of glutamine in human volunteers (free glutamine versus protein-bound glutamine). **Nutrition**, 16(11-12):1037-1042, 2000.

BULUS N, CERSOSIMO E, GHISHAN F, ABUMRAD NW. Physiologic important of glutamine. **Metabolism**, 38(8):1-5, 1989.

CALDER PC. Glutamine action in cells of the immune system In: CYNOBER L, FÜRST P, LAWIN P. Pharmacological Nutrition, Immune Nutrition. Munick, Germany, W. Zuckschwedt Verlag. p.10-20, 1995

CALLOWAY DH, SPECTOR H. Nitrogen utilization during caloric restriction. **J. Nutr.**, 56(1):545-554, 1955.

CAMPANA AO, BURINI RC, OUTA AY, CAMARGO JLV. Experimental protein deficiency in adult rats. **Rev. Bras. de Pesquisa Med. Biol.**, 8(3-4):221-226, 1975.

CHAMBON-SAVANOVITCH C, FELGINES C, FARGES MC, PERNET P, CÉZARD JP, RAUL F. Severe dietary restriction initiated in aged rats: evidence for poor adaptation in terms of protein metabolism and intestinal functions. **Eur. J. Clin. Invest.**, 29(6):504-511, 1999.

CHIPPONI JX, BLEIER JC, SANTI MT, RUDMAN D. Deficiencies of essential and conditionally essential nutrients. **Am. J. Clin. Nutr.**, 35(5):1112-1116, 1982.

CHISTENSEN HN. Interorgan amino acid nutrition. **Physiol. Rev.**, 62(3-4):1193-1233, 1982.

CLAEYSSSENS S, BOUTELOUP-DEMANGE C, GACHON P, HECKETSWEILER B, LEREBOURS E, LAVOINNE A, DÉCHELOTTE P. Effect of enteral glutamine on leucine, phenylalanine and glutamine metabolism in hypercortisolemic subjects. **Am. J. Physiol.**, 278(5):E817-

E824, 2000.

CUNHA DF. Efeito da glutamina na mucosa ileal e na translocação intestinal de *Candida albicans* após trauma térmico em ratos eutróficos ou subnutridos. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Departamento de Clínica Médica, 1994

DARMAUN D, HUMBERT B. Does the fate of enterally administered glutamine depend on its molecular form? Bound versus free amino acid. **Nutrition**, 16(11-12):1101-1102, 2000.

DARMAUN D. Response of glutamine metabolism to enteral and parenteral nutrition. In: CYNOBER L, FURST P, LAWIN P. Pharmacological Nutrition, Imune Nutrition. Munich, Germany, W. Zuckschwedt Verlag. p. 59-67, 1995.

DÉCHELOTTE P, DARMAUN D, RONGIER M, HECKETSWEILER B, RIGAL O, DESJEUX J-F. Absorption and metabolic effects of enterally administered glutamine in humans. **Am. J. Physiol.**, 260(5):G677-G682, 1991.

DEO MG, SOOD SK, RAMALINGASWAMI V. Experimental protein deficiency. **Arch. Pathol.**, 80(1):14-23, 1965.

FASHAKIN JB, FÜRST P. Effect of dietary protein restriction on urinary nitrogen loss and tissue free amino acid patterns in mature rats. **Nutr. Res.**, 7(3):285-298, 1987.

FELGINES C, SAVANOVITCH C, FARGES MC, CYNOBER L, VASSON MP. Protein metabolism in rats during long term dietary restriction: influence of aging. **J. Parent. Ent. Nutr.**, 23(1):32-37,1999.

FERN EB, HIDER RC, LONDON DR. Studies in vitro on free amino acid pools and protein synthesis in rat jejunum. **Eur. J. Clin. Invest.**, 1(4):211-215, 1971.

FILHO IJ. Esvaziamento gástrico com ^{99m}Tecnécio após ressecção ou exclusão jejunoileal extensa - estudo experimental em ratos. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 1998.

FÜRST P, STEHLE P. Glutamine and Glutamine-containing dipeptides. In: CYNOBER L Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease. CRC Press, Inc, New York. p.373, 1995.

FÜRST P, ALBERS S, STEHLE P. Evidence for a nutritional need for glutamine in catabolic patients. **Kidney. Int.**, 36(27):S287-S292,1989.

FÜRST P. Conditionally indispensable amino acids (glutamine, cysteine, tyrosine, arginine, ornithine, taurine) in enteral feeding and the dipeptide concept. In: FÜRST P & YOUNG V. Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition. Nestlé Nutrition Workshop Series. Clinical & Performance Program, v.3, p. 199-219, 2000.

GRIMBLE GK, WEST MFE, ACUTI ABC, REES RG, HUNJAN MK, WEBSTER JD, FROST PG, SILK DBA. Assessment of an automated chemiluminescence nitrogen analyzer for routine use in clinical nutrition. **J. Parent. Ent. Nutr.**, 12(1):100-106,1988.

HALL JC, HEEL K, McCAULEY R. Glutamine. **Br. J. Surg.**, 83(3):305-312, 1996.

HAMMARQVIST F, WENERMAN J, ALI R, VON DER DECKEN A, VINNARS E. Addition of glutamine to total parenteral nutrition after elective abdominal surgery spares free glutamine in muscle, counteracts the fall in muscle protein synthesis, and improves nitrogen balance. **Ann. Surg.**, 209(4):455-461, 1989.

HAMMARQVIST F, VON DER DECKEN A, VINNARS E, WERNERMAN J. Stress hormone and amino acid infusion in healthy volunteers: short-term effects on protein synthesis and amino acid metabolism in skeletal muscle. **Metabolism**, 43(9):1158-1163, 1994.

HANKARD RG, DARMAUN D, SAGER BK, D'AMORE D, PARSONS WR, HAYMOND M. Response of glutamine metabolism to exogenous glutamine in humans. **Am. J. Physiol.**, 269(4 pt 1):E663-E671, 1995.

HARTMANN F, PLAUTH M. Intestinal glutamine metabolism. **Metabolism**, 38(8 suppl1):18-24, 1989.

HARTMANN F, RAIBLE A, PLAUTH M, BAUDER D, VIEILLARDBARON D. Glutamine-dependence of rat enterocyte functions as assessed in cell cultures. **Clin. Nutr.** 10(2):125-127, 1991.

HELTON WS, SMITH RJ, ROUNDS J, WILMORE DW. Glutamine prevents pancreatic atrophy and fatty liver during elemental feeding. **J. Surg. Res.**, 48(4):297-303, 1990.

HEYS SD, WALKER LG, SMITH I, EREMIN O. Enteral nutrition supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer:

a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Ann. Surg.**, 229(4):467-477, 1999.

HILL JO, FRIED SK, DIGIROLAMO M. Effects of fasting and restricted refeeding on utilization of ingested energy in rats. **Am. J. Physiol.**, 247(2): R318-R326, 1984.

HIRAMATSU T, CORTIELLA J, MARCHINI JS, CHAPMAN TE, YOUNG VR. Source and amount of dietary nonspecific nitrogen in relation to whole-body leucine, phenylalanine, and tyrosine kinetics in young men. **Am. J. Clin. Nutr.**, 59(6):1347-1355, 1994.

KHAN MA, BENDER AE. The effect of food restriction on body weight, nitrogen balance and liver composition of adults rats. **Pakistan. J. Sci. Ind. Res.**, 17(1):18-20, 1974.

KIRSCH RE, BROCK JF, SAUNDERS SJ. Experimental protein-calorie malnutrition. **Am. J. Clin. Nutr.**, 21(8):820-826, 1968.

KLIMBERG VS, SOUBA WW, SALLOUM RM, PLUMLEY DA, COHEN FS, DOLSON DJ, BLAND KI, COPELAND EM. Glutamine-enriched diets support muscle glutamine metabolism without stimulating tumor growth. **J. Surg. Res.**, 48(4):319-323, 1990.

LACEY JM, WILMORE DW. Is glutamine a conditionally essential amino acid? **Nutr. Rev.**, 48(8):297-309, 1990.

LAJOLO FM, TIRAPEGUI J. Proteínas e aminoácidos. In: DUTRA-de-OLIVEIRA JE, MARCHINI JS. Ciências Nutricionais. Sarvier. São Paulo. p.41-69, 1998.

LENTNER C. Geigy scientific tables. Ciba-Geigy Limited, Basel, Switzerland. v.3, p. 92, 1984.

LOCHS H, ROTH E, GASIC S, HUBL W, ADIBI SA. Clearance of glutamine dipeptides by human organs: sensitivity to N-terminal amino acid residue. **Clin. Res.**, 37(2):A594, 1989 .

McCANCE RA, WIDDOWSON EM. Protein deficiencies and calorie deficiencies. **Lancet**, 2(7455):158-159, 1966.

MARCHINI JS, MATSUI E, SOUZA N, DUTRA-de-OLIVEIRA JE. Liver and Kidney nitrogen uptake in rats fed beans enriched with ¹⁵ nitrogen through (¹⁵NH₄)₂SO₄ used as soil fertilizer. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 23(8):667-669, 1990.

MARCHINI JS, NGUYEN P, DESCHAMPS JACK-YVES, MAUGÉRE P, KREMPF M, DARMAUN D. Effect of intravenous glutamine on duodenal mucosa protein synthesis in healthy growing dogs. **Am. J. Physiol.**, 276(4pt1):E747-53, 1999.

MARCHINI JS, VANNUCCHI H, SOUZA DA, DUTRA-DE-OLIVEIRA JE. Uso clínico da glutamina. **Rev. de Metabolismo e Nutrição**, 4(1-2):10-17, 1997.

MARLISS EB. Biochemistry of the amino acids. New York: Academic Press. v. 1, p.1-57, 1965.

MARLISS EB, AOKI TT, POZEFSKY T, MOST AS, CAHILL GF. Muscle and splenic glutamine and glutamate metabolism in postabsorptive and starved man. **J. Clin. Invest.**, 50(4):814-817, 1971.

MEISTER A. Metabolism of glutamine. **Physiol. Rev.**, 36(1):103-127, 1956.

MEISTER A. Catalytic mechanism of glutamine synthetase; overview of glutamine metabolism. In: MORA J, PALACIOS R, eds. Glutamine: metabolism, enzymology, and regulation. New York: Academic Press. p. 1-40, 1980.

MIANAMI H, MORSE EL, ADIBI SA. Characteristics and mechanism of glutamine-dipeptide absorption in human intestine. **Gastroenterology**, 103(1):3-11, 1992.

MILLWARD DJ, JEPSON MM, OMER A. Muscle glutamine concentration and protein turnover in vivo in malnutrition and in endotoxemia. **Metabolism**, 38(8 suppl. 1):6-13,1989.

MOORE EE, JONES TN. Benefits of immediate jejunostomy feeding after major abdominal trauma-a-prospective, randomized study. **J. Trauma**, 26(10):874-881, 1986.

MOSONI L, MALMEZAT T, VALLUY MC, HOULIER ML, ATTAIX D, MIRAND PP. Lower recovery of muscle protein lost during starvation in old rats despite a stimulation of protein synthesis. **Am. J. Physiol.**, 277(1):E608-E616, 1999.

NCNURLAN MA, GARLICK PJ. Influence of nutrient intake on protein turnover. **Diabetes Metab. Rev.**, 5(2):165-189, 1989.

OSBORNE TB, MENDEL LB. The resumption of growth after long continued failure to grow. **J. Biol. Chem.**, 23:439, 1915.

PENN D, LEBENTHAL E. Intestinal mucosa energy metabolism - A new approach to therapy of gastrointestinal disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, 10(1):1-4, 1990.

PENG Y, TEWS JK, HARPER AE. Amino acid imbalance, protein intake, and changes in rat brain and plasma amino acid. **Am. J. Physiol.**, 222(2):314-321, 1972.

PETER JC, HARPER AE. Adaptation of rats to diets containing different levels of protein-effects of food-intake, plasma and brain amino-acid concentrations and brain neurotransmitter metabolism. **J. Nutr.** 115(3):382-398, 1995.

PLATELL C, McCAULEY R, MCCULLOCH R, HALL J. Influence of glutamine and branched chain amino acids on the jejunal atrophy associated with parenteral nutrition. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, 6(4):345-349, 1991.

RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES. National Academy of Sciences Press, NW, 10 th edition, Washington. 1989.

ROSE WC. Amino acid requirements of man. **Fed. Proc.**, 8(1):546-52, 1949.

SCHMIDL MK. Selective uptake of glutamine in the gastrointestinal tract. **Br. J.Surg.**, 79(1):91, 1992.

SMITH EB, JOHSON BC. Studies of amino acid requirements of adult rats. **Br. J. Nutr.**, 21(1): 17-27, 1967.

SOUBA WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. **Annu. Rev. Nutr.**, 11(1):285-308, 1991.

SOUBA WW, HERSKOWITZ K, SALLOUM RM, CHEN MK, AUSTGEN TR. Gut glutamine metabolism. **J. Parent. Ent. Nutr.**, 14 (suppl 5):45S-50S, 1990.

SOUBA WW. Nutrition support. **New Engl. J. Med.**, 336(1):41-48, 1997.

TAVARES DC. Efeito do aminoácido glutamina sobre a frequência de aberrações cromossômicas induzidas pelas radiações gama em células de mamíferos *in vivo* e *in vitro*. Tese de doutorado apresentada a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Departamento de Genética, 1995

TORUN B, CHEW F. Protein-energy malnutrition. In: SHILS ME, OLSON JA, SHIKE M. Modern nutrition in health and disease. 9 ed. Williams & Wilkins. New York. p. 963, 1999.

VANNUCCHI H, SANTOS JE, MARCHINI JS, DUTRA-DE-OLIVEIRA JE. Nutrição Clínica na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. **Medicina, Ribeirão Preto**, 31(1):7-12, 1998.

VAZQUEZ JA, PALEOS GA, STEINHARDT HJ, LANGER K, BRANDL M, FEKL WL, ADIBI SA. Protein nutrition and amino acid metabolism after 4 weeks of total parenteral nutrition on effects of sepsis in baboons. **Am. J. Clin. Nutr.**, 44(1):24-32,1986.

VERNON DR, HILL GL. The relationship between tissue loss and function: recent developments. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, 1(1):5-8, 1998.

WATERLOW JC. Observation on the mechanism of adaptation to low protein intakes. **Lancet**, 2(7578):1091-1097,1968.

WATERLOW JC. The requirements of adult man for indispensable amino acids. **Eur. J. Clin. Nutr.**, 50(suppl.1):S151-S176,1996.

WILLIAMS SR. Nutrition and Diet Therapy. 8 ed. Mosby. p.19, 1997.

WILMORE DW, SMITH RJ, O'DWYER ST, JACOBS DO, ZIEGLER TR, WANG XD. The gut: a central organ after surgical stress. **Surgery**, 104(5):917-923,1988.

WINKLER MF, MANCHESTER S. Nutrition Care in Metabolic stress: sepsis, trauma, burns and surgery. In: MAHAN LK, ESCOTT-STUMP S. Food, nutrition & diet therapy. 9 ed., W.B. Saunders Company.Philadelphia. p. 663, 1996.

WORDL HEALTH ORGANIZATION / UNICEF.Genova, (WHO/NUT) 1996.

YOUNG VR, MARCHINI JS. Mechanisms and nutritional significance of metabolic responses to altered intakes of protein and amino acids, with reference to nutritional adaptation in human. **Am. J. Clin. Nutr.**, 51(2): 270-289, 1990.

YOUNG VR, MARCHNI JS, YU YM, HIRAMATSU T. Branched-chain amino acids and nutritional aquirements in health and disease, including the branched-chain reto acids. In: Branched-chain amino acids. Biochemistry, Physiopathology, and clinical Science. SCHAUDER P, WAHREN J, PAOLETTI R, BERNARDI R, RINETTI (eds). Raven Press, New York, 1992, pg. 83-118.

XU G, KWON G, MARSHALL CA, LIN T, LAWRENCE JC. Branched-chain amino acids are essential in the regulation of PHAS-I and p70 S6 kinase by pancreatic β -cells. **J. Biol. Chem.**, 273(43) 28178-28184, 1998.

ZIEGLER TR, SMITH RJ, BYRNE TA, WILMORE DW. Potential role of glutamine supplementation in nutrition support. **Clin. Nutr.**, 12(suppl.1):S82-S90.1993.

10. RESUMO

A recuperação nutricional é mais eficaz quando há suplementação de aminoácidos, e em especial, a glutamina. Os pacientes desnutridos, suplementados com glutamina, tendem a diminuir a negatividade do balanço nitrogenado. O objetivo foi verificar em ratos Wistar desnutridos e submetidos a oferta de glutamina, se haveria a ocorrência de uma menor excreção de nitrogênio urinário e/ou maior deposição do teor de nitrogênio em diferentes tecidos. Os ratos foram submetidos a subnutrição em 21 dias e nos 3 dias subseqüentes, 22,23 e 24 dias receberam glutamina. Os animais foram separados em grupos de ratos adultos clinicamente eutróficos (N); desnutridos protéico-calóricos (DPC); DPC realimentados e suplementados com L-glutamina (DPCRGln); DPC suplementados com L-glutamina (DPCGln) e desnutridos protéicos suplementados com L-glutamina (DPGln). Na determinação de nitrogênio urinário e tecidual, utilizaram-se os métodos de piroquimioluminescência e Micro-Kjeldahl e além disso, analisou-se o teor de aminoácido plasmático por cromatografia líquida. A perda de peso foi significativa nos grupos com desnutrição protéico-calórica. Nos resultados da excreção de nitrogênio urinário a diferença estatística, apenas ocorreu no grupo DPGln do basal ao 7º dia de experimento. O nitrogênio tecidual teve diferença apenas nos grupos com desnutrição protéico-calórica. As concentrações de aminoácidos plasmáticos não tiveram alterações com a suplementação de glutamina. Conclui-se que não foi possível, pelas análises dos dados encontrados, detectar qualquer efeito da suplementação de L-glutamina em ratos desnutridos.

11. ABSTRACT

Nutritional status recovery is thought more effective when there are supplement amino acid, especially, glutamine. The aim of the present study was to evaluate the effect of glutamine supplementation the in nitrogen urinary excretion and major level of tissue nitrogen. The rats were malnourished in 21 days and received L-glutamine during 3 days. The groups of rats were: normal rats (N), malnourished rats (DP), malnourished refeed and L-glutamine supplemented (DPCRGln), malnourished L-glutamine supplemented (DPCGln) and protein malnourished L-glutamine supplemented (DPGln). Urinary and tecidual nitrogen were determined by Micro-Kjedahl and chemiluminescence, respectively. Plasma amino acids were analyzed by high performance liquid cromatography. The loss of weight was significant in the groups with malnourished. In the results of the urinary nitrogen excretion the difference statistics, only occurred in the DPGln group of basal to 7^o the day of experiment. The tecidual nitrogen had difference only in the groups with malnourished. The concentrations amino acid plasma had not alterations with the supplemented of glutamina. Glutamine supplementation did not show any effect on urinary or tecidual nitrogen or plasma amino acid content

Anexo I

Figuras dos grupos experimentais

Figura I. Evolução da perda de peso do grupo experimental desnutrido protéico-calórico.

Figura II. Evolução da perda de peso do grupo experimental desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina.

Figura III. Evolução da perda de peso do grupo experimental desnutrido protéico-calórico suplementado com glutamina.

Figura IV. Evolução da perda de peso do grupo experimental desnutrido protéico suplementado com glutamina.

Figura V. Nitrogênio do Músculo Abdominal nos diferentes grupos experimentais.

Figura VI Nitrogênio do Jejunó nos diferentes grupos experimentais.

Figura VII. Nitrogênio do Rim nos diferentes grupos experimentais.

Figura VIII. Nitrogênio do Fígado nos diferentes grupos experimentais.

Figura IX. Nitrogênio do Ventrículo Direito nos diferentes grupos experimentais.

Figura X. Nitrogênio Ventrículo Esquerdo nos diferentes grupos experimentais.

Figura I. Evolução da perda de peso do grupo experimental, desnutrido protéico-calórico (DPC).

Figura II. Evolução da perda de peso do grupo experimental, desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina (DPCRGln).

Figura III. Evolução da perda de peso do grupo experimental, desnutrido protéico-calórico suplementado com glutamina (DPCGln).

Figura IV. Evolução da perda de peso do grupo experimental, desnutrido protéico suplementado com glutamina (DPGln).

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico-calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais p<0,05.

Figura V. Nitrogênio do Músculo Abdominal nos diferentes grupos experimentais.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico-calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais p<0,05.

Figura VI. Nitrogênio do Jejuno nos diferentes grupos experimentais.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico-calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais $p < 0,05$.

Figura VII. Nitrogênio do Rim nos diferentes grupos experimentais.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico-calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais $p < 0,05$.

Figura VIII. Nitrogênio do Fígado nos diferentes grupos experimentais.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico -calórico, DPCRGln= desnutrido protéico -calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico -calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais $p < 0,05$.

Figura IX. Nitrogênio do Ventrículo Direito nos diferentes grupos experimentais.

N= nutrido, DPC= desnutrido protéico-calórico, DPCRGln= desnutrido protéico-calórico realimentado e suplementado com glutamina, DPCGln= desnutrido protéico-calórico e suplementado com glutamina, DPGln= desnutrido protéico suplementado com glutamina. Letras iguais $p < 0,05$.

Figura X. Nitrogênio do Ventrículo Esquerdo nos diferentes grupos experimentais.